

Aus der Städtischen Kinderklinik Berlin-Charlottenburg
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. Heinrich Wiesener

Untersuchungen zur klinischen Brauchbarkeit
des fluoreszenzmikroskopischen Nachweises
von Dyspepsiecoli

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus Krehnke
aus Kiel

1967

Aus der Städtischen Kinderklinik Berlin-Charlottenburg
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. Heinrich Wiesener

Untersuchungen zur klinischen Brauchbarkeit
des fluoreszenzmikroskopischen Nachweises
von Dyspepsiecoli

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Klaus Krehnke
aus Kiel

Dekan: Professor Dr. med. Alfred N. Witt

Referent: Professor Dr. med. Heinrich Wiesener

Korreferent: Professor Dr. med. Adalbert Loeschke



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 9. Mai 1967

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	S. 1
Methodik	S. 2
Koppelung der Antiseren	S. 2
Anfertigung und Färbung der Stuhl- ausstriche	S. 4
Auswertung der Präparate	S. 6
Die kulturell-serologische Untersuchung auf Dyspepsiecoli	S. 7
Untersuchungsmaterial	S. 9
Untersuchungsergebnisse	S. 10
Besprechung der Untersuchungsergebnisse ..	S. 19
Zusammenfassung	S. 33



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einleitung

ADAM (1) hat 1923 den pathogenen Vertretern der *Escherichia coli* den im deutschen Sprachgebrauch seither üblichen Namen "Dyspepsiecoli" (DC) gegeben. Über ihre Rolle bei Ernährungsstörungen der Säuglinge haben BRAUN (3), OCKLITZ (24) und ADAM (2) ausführlich berichtet. KAUFFMANN (14) hat in seinen Arbeiten die Serologie der Coligruppen systematisch zusammengestellt, so daß man in den folgenden Jahren durch Kultur und Agglutination unter den vielen Coligruppen die pathogenen serologisch von den Normalcoli unterscheiden konnte. Im Jahre 1957 hat WHITAKER (34) zum ersten Mal die von COONS (6) angegebene Technik in die Diagnostik der Coligruppe eingeführt, indem sie Antikörper gegen DC in Kaninchenserum mit einem Fluoreszenzfarbstoff koppelte und DC nach der Behandlung mit diesem Serum mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops erkannte.

Wenn eine Kinderklinik die fluoreszenzmikroskopische Methode in die DC-Diagnostik einführen will, so muß geprüft werden, ob man tatsächlich nur dann positive Resultate erhält, wenn DC im Stuhl vorhanden sind, oder ob der Untersuchende durch andere fluoreszierende Teilchen im Stuhlausstrich zu einer Fehldiagnose verleitet werden kann. Außerdem ist zu prüfen, ob in den Stuhlproben, die DC enthalten, diese mit der fluoreszenzmikroskopischen Methode auch stets gefunden werden. Schließlich kann man bei einer DC-Infektion Verlaufsuntersuchungen anstellen und überprüfen, wie sich die DC während und nach der Therapie verhalten.

Methodik

Das Prinzip der fluoreszenzmikroskopischen DC-Diagnostik beruht darauf, daß man die Antikörper im DC-Antiserum vom Kaninchen mit einem Fluoreszenzfarbstoff koppelt, ohne daß die Antikörpereigenschaft, sich mit dem entsprechenden Antigen zu verbinden, dabei zerstört wird. Gibt man gekoppelte Antiseren auf einen Stuhlausstrich, so kommt es - wenn DC vorhanden sind - zur Antigen - Antikörperreaktion. Die mit dem Fluoreszenzfarbstoff markierten Antikörper haften dann an den Bakterien und können nicht mehr vom Präparat abgespült werden. Bei der Betrachtung unter dem Fluoreszenzmikroskop werden die DC im Präparat an der vom Farbstoff verursachten Fluoreszenz erkannt.

Koppelung der Antiseren

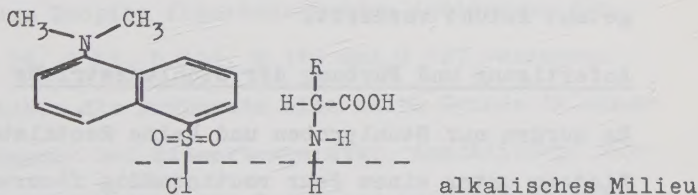
THOMASON (33) hat gezeigt, daß keine bemerkbare Verminderung der Fluoreszenz zu beobachten ist, wenn man reine O-Antiseren mit Fluoreszenzfarbstoff koppelt und gegen Stämme testet, die ein thermostabiles Kapselantigen (B-Antigen) haben. REIMERS (28,29) empfiehlt gekoppelte O-Antiseren, um seltene K-gleiche, jedoch O-differente Stämme nicht mitzufärben.

Wir koppelten O-Antiseren oder benutzten die gekoppelten OB-Antiseren der Behringwerke. Bei der Koppelung der O-Antiseren hielten wir uns an die Anweisung von PETUELY und LINDNER (27), die ebenso wie REIMERS (28) den von MAYERSBACH (20) empfohlenen Farbstoff 1-Dimethylaminonaphthalin-5-sulfochlorid zur Markierung der

Antikörper benutzen.

1 ml des Antiserums wird mit 5 ml frisch bereiteter 1 % Natriumbikarbonatlösung vermischt, das Gemisch auf 0° C abgekühlt und unter Schütteln mit 0,8 ml Dioxan (entsteht durch Polymerisation von Äthylenoxyd in schwefelsaurer Lösung) als ausgezeichnetem Lösungsmittel tropfenweise versehen. Im Abstand von mindestens sechs Stunden werden viermal 0,5 ml der 0,5 % Lösung von 1-Dimethylamino-naphtalin-5-sulfochlorid in wasserfreiem Azeton langsam unter starkem Schütteln hinzugefügt. Das Gemisch ist während der ganzen Zeit auf 0° C zu halten.

Reaktionsschema:



Bei der Zugabe des Farbstoffs kann eine leichte Trübung auftreten. Sie soll nach zwei Stunden verschwunden sein. Wenn das nicht der Fall ist, muß die Lösung spätestens bei der Dialyse klar werden, weil sich dabei ausgefallenes 1-Dimethylaminonaphthalin-5-sulfochlorid auflöst. Verbleibt die Trübung, so handelt es sich um ausgefallenes Protein, das bei der Koppelung denaturiert wurde. Nach PETUELY (27) soll die Ursache der Denaturierung ein zu hoher Säuregehalt des Dioxan sein. 12 Stunden nach der letzten Farbstoffzugabe beginnt die Dialyse gegen eine Pufferlösung aus 9 Teilen 0,9% Kochsalzlösung und einem Teil 1% Natrium-

bikarbonatlösung. Für jedes Serum wird etwa ein Liter Pufferlösung verwendet, die viermal jeweils nach 12 Stunden gewechselt wird. In der letzten zur Dialyse benutzten Pufferlösung darf kein Fluoreszenzfarbstoff mehr vorhanden sein. 12 Stunden nach dem letzten Wechsel der Pufferlösung wird geprüft, ob das Serum die entsprechenden DC anfärbt und andere Keime nicht mitgefärbt werden. Wenn sich das gekoppelte Serum als brauchbar erweist, wird es in zwei ml-Fläschchen abgefüllt und eingefroren. Zum Gebrauch werden die Seren wieder aufgetaut und kühl aufbewahrt. Die Fläschchengröße ist so zu wählen, daß das Serum möglichst in einer Woche verbraucht wird, da es aufgetaut leicht verdirbt.

Anfertigung und Färbung der Stuhlausstriche

Es wurden nur Stuhlproben und keine Rectalabstriche von Kindern unter einem Jahr routinemäßig fluoreszenzmikroskopisch und kulturell-serologisch auf DC untersucht. Fluoreszenzmikroskopisch wurden alle Stuhlproben, die bis 7 Uhr im Laboratorium eingetroffen waren, am selben Tag, später eingetroffene Proben am nächsten Tag bearbeitet. Die Lagerung soll nach GEBERT (10) die Aussagekraft der Stühle bezüglich der DC-Diagnostik nicht beeinträchtigen. CHERRY und Mitarbeiter (4) haben festgestellt, daß sich DC im Stuhl, der bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird, vermehren, so daß sie sogar leichter nachzuweisen sind.

Die Stuhlproben wurden mit dem Stuhllöffelchen möglichst dünn auf einen Objektträger ausgestrichen. Wenn nötig, wurde dazu ein zweiter Objektträger benutzt.

Alle in Tabelle 5 (S. 19 a) aufgeführten Autoren haben den Stuhl vor dem Ausstrich mit destilliertem Wasser oder mit Pufferlösung aufgeschwemmt oder verdünnt. Mit dem direkten Stuhlausstrich haben wir ausreichend dünne Präparate erhalten. Eine Einstellung des pH-Wertes in dem Stuhlausstrich ist nicht notwendig, da das Präparat an der Luft gestrocknet, mit Hitze fixiert und erst dann mit gepuffertem Serum beschickt wird.

Dazu wurden entsprechend der Anweisung von REIMERS (28) die Präparate nach der Fixierung durch vier Paraffinstriche in fünf Felder unterteilt. Diese wurden dann mit je einem Tropfen flüoreszierenden Antiserums der Gruppen O 26, O 55, O 111, O 119 und O 127 versehen. Danach blieben die Präparate eine halbe Stunde in einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur. Anschließend wurden die nicht angelagerten Antiseren quer zum Objektträger abgespült. Es hat sich bewährt, dazu eine Spritzflasche zu benutzen, mit der man zunächst jedes Feld einzeln mit gezieltem Strahl abspülen kann. Zum Trocknen wurden die Präparate senkrecht auf eine Längskante gestellt oder, wenn sie gleich beurteilt werden sollten, vorsichtig mit Filterpapier abgetrocknet.

Zur Untersuchung mit polyvalenten Seren wurde ein zweiter Stuhlausstrich angefertigt. Das Präparat wurde durch zwei Paraffinstriche in drei Felder unterteilt : je eins für polyvalentes Serum I und II, das dritte Feld wurde nicht mit Serum versehen, um positive Resultate zu erhalten.

tate in den ersten beiden Feldern zusätzlich von eventuell vorhandener Eigenfluoreszenz des Stuhles unterscheiden zu können.

Auswertung der Präparate

Die mikroskopische Betrachtung der Präparate wurde mit der Fluoreszenzeinrichtung " Laborlux " der Firma Leitz vorgenommen. Als Strahlungsquelle diente die Quecksilberhöchstdrucklampe CS 150 W der Firma Philips. In den Erregerstrahlengang waren folgende Filter eingeschaltet : Wärmeschutzfilter KG 1, Rotdämpfungsfilter BG 38 und nach Bedarf entweder der Blauerregungsfilter BG 12 in der Dicke 1,5 mm oder 3 mm oder beide BG 12 zusammen mit 4,5 mm. Als Sperrfilter diente der Blauabsorptionsfilter der Fluoreszenzeinrichtung. Das Objektiv war eine normale Ölimmersionsoptik 1 : 100 mit dem Faktor 1,3. Die Gesamtvergrößerung des Mikroskopes war 750 fach. Wir benutzten fluoreszenzarmes Immersionsöl.

Mit DC positiv wurden die Präparate bewertet, in denen gleichgroße, runde oder ovale Gebilde mit einem deutlich fluoreszierenden Randsaum in einem der Felder zu sehen waren. Die Anzahl der fluoreszierenden Bakterien, die in einem Feld vorhanden sein mußten, um den Untersuchenden zu einem positiven Ergebnis kommen zu lassen, richtete sich nach der Intensität der unspezifischen Fluoreszenz im Stuhlausstrich. War keine Fluoreszenz neben der der DC im Stuhlausstrich vorhanden,

so genügten drei für DC gehaltene fluoreszierende Teilchen. War jedoch eine stärkere unspezifische Fluoreszenz vorhanden, mußte mindestens an fünf Stellen die für DC charakteristische Fluoreszenz im entsprechenden Feld zu finden sein.

Eine Untersuchung der positiven Resultate nach Qualität und Quantität der DC, wie sie von NELSON (22), DANIELSON (8) und GEBERT (10) angegeben wurde, haben wir nicht vorgenommen. Denn für die klinische Behandlung ist es nur erforderlich zu wissen, ob ein Kind DC im Stuhl hat oder nicht. Deshalb haben wir uns mit den Resultaten DC positiv, DC negativ oder Eigenfluoreszenz begnügt.

Die kulturell-serologische Untersuchung auf DC

Die kulturell-serologische Routineuntersuchung der Stuhlproben wurde außerhalb der Klinik im Typhuslabor des Medizinaluntersuchungsamts II Berlin vorgenommen.

Wenn der Stuhl im Untersuchungsamt eintrifft, wird eine kleine Probe mit einer Platinöse auf einer Blutagar - und auf einer Endoagarplatte ausgestrichen. Nach 24 stündiger Bebrütung bei 37° C wird eine Probeagglutination mit polyvalenten DC - Antiseren vorgenommen. (Polyvalent I - Serum enthält O 25, O 26, O 55, O 86, O 111, O 119, O 127 und O 128; Polyvalent II- Serum enthält O 44, O 78, O 114, O 125 und O 126.) Es werden drei Einzelkolonien und außerdem etwas mehr Bakterienmaterial - das man gewinnt, indem man mit einer Platinöse über die Agarplatte streicht - in

physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und jeweils mit polyvalentem Serum getestet. Tritt dabei keine Agglutination auf, so wird der Stuhl mit DC negativ beurteilt. Bei vorhandener Agglutination werden aus der ersten Kultur sechs andere Kolonien auf einer sternförmig unterteilten Blutagarplatte ausgestrichen. Diese Platte wird wiederum 24 Stunden bebrütet.

Am dritten Untersuchungstag werden die in den sechs Feldern der Blutagarplatte gewachsenen Bakterien mit polyvalentem und monovalentem DC - Antiserum auf Agglutination geprüft. Zeigen die Bakterien eines Feldes bei der Untersuchung mit monovalentem Serum eine Agglutination, so wird eine Einzelkolonie des entsprechenden Feldes in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Zur Überprüfung der fermentativen Fähigkeiten der Bakterien wird mit dieser Lösung eine kleine bunte Reihe angesetzt. Außerdem wird eine Bouillon mit Bakterien aus dem gleichen Feld versehen und 24 Stunden bebrütet.

Am vierten Tag wird die keimhaltige Bouillon zwei Stunden lang gekocht. Dabei werden die thermolabilen Antigene der Bakterien abgetötet, so daß man eine gute, durch Kapselantigene ungestörte O - Agglutination erzielen kann. Die Agglutination bei Zugabe des entsprechenden monovalenten O - Antiserums sieht dann körnig oder flockig aus.

Mit DC positiv werden diejenigen Stühle beurteilt, de-

ren in der Bouillonkultur angereicherte Keime in einer Verdünnungsreihe einen bestimmten Agglutinationstiter erreichen. (Der Agglutinationstiter für die monovalenten Seren wird der Qualität des Serums entsprechend vom Hersteller des Antiserums ermittelt.) ⁺⁺⁺

Untersuchungsmaterial

Wir untersuchten in der Zeit vom 1.2.1964 bis zum 31.1.1965 fluoreszenzmikroskopisch 809 Stuhlproben von 420 Säuglingen. Mit Serum, das nur Antikörper gegen eine DC - Gruppe enthielt, (monovalentes Serum), untersuchten wir auf die DC - Gruppen O 26, O 55, O 111, O 119 und O 127. Seit dem 1.10.1964 stand auch Serum, das gekoppelte Antikörper gegen mehrere DC - Gruppen enthielt (polyvalentes Serum der Firma The Sylvana Company, Millburn, New Jersey), zur Verfügung. Das polyvalente Serum I enthielt Anti - O 26, - O 55, - O 111, und - O 127. Das polyvalente Serum II setzte sich aus Anti - O 86, - O 119, - O 125, - O 126 und - O 128 zusammen. In den letzten vier Monaten des Berichtjahres konnten deshalb mit polyvalentem Serum auch DC der Gruppe O 86, O 125, O 126 und O 128 bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung erfaßt werden.

⁺⁺⁺ Für ihre freundliche Unterstützung danken wir Frau Dr. Bleich vom Medizinaluntersuchungsamt II Berlin (Leiter Dr. Henze).

Untersuchungsergebnisse

Wir untersuchten Stuhlproben von 420 eben aufgenommenen Säuglingen. Dabei wurden im Stuhl von 57 Kindern DC entdeckt : 43 mal nur fluoreszenzmikroskopisch, 8 mal nur kulturell-serologisch und 6 mal gemeinsam mit beiden Verfahren.

Von den Säuglingen, die DC im Stuhl hatten, befanden sich 34 im ersten Trimenon, 11 im zweiten, die übrigen 12 waren älter als ein halbes Jahr (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1

DC - Gruppe	Alter der Kinder				ins- gesamt
	1.-3.	4.-6.	7.-9.	10.-12.	
	Monat	Monat	Monat	Monat	
O 25	2				2
O 26	7	2	2		11
O 55	4	1	3		8
O 86			1		1
O 111	1	3	1		5
O 119	9	3	1	2	15
O 125	1				1
O 126		1			1
O 127	7	1	1		9
P II	3			1	4
	34	11	9	3	57

Bei 30 der eben erwähnten 57 Kinder kontrollierten wir den Verlauf der DC - Infektion während und nach der medikamentösen Therapie. Dazu wurden 371 Stuhlproben fluoreszenzmikroskopisch untersucht.

Von 420 neu aufgenommenen Kindern konnte die erste Stuhlprobe von 18 Säuglingen wegen der im Stuhl auftretenden Eigenfluoreszenz nicht beurteilt werden. Deshalb mußten wir die Aufnahmeuntersuchung bei diesen Kindern wiederholen.

Es wurden also bei 48 Kindern insgesamt 389 Nachuntersuchungen angestellt, so daß sich mit den 420 Aufnahmeuntersuchungen die Gesamtzahl von 809 fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen ergibt.

Die DC - Gruppen, die bei den Kindern vorkamen, sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Dabei sind die Untersuchungsergebnisse unterteilt, je nachdem, ob der Säugling klinisch Zeichen einer Dyspepsie hatte oder nicht. Auffällig erscheint, daß bei klinisch nachgewiesener Dyspepsie 20 Kinder DC im Stuhl hatten, die nur bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung entdeckt wurden. Außerdem wurden bei 23 klinisch darmgesunden Säuglingen fluoreszenzmikroskopisch DC gefunden.

Von den acht Säuglingen, bei denen nur kulturell DC im Stuhl nachgewiesen wurde, hatten vier klinisch eine Dyspepsie, die anderen vier nicht. Bei den übrigen sechs der 57 Kinder wurden sowohl fluoreszenzmikroskopisch als auch kulturell-serologisch DC festgestellt.

Tabelle 2 ⁺⁺⁺

Gruppe	D +	D -	D +	D -	D +	D -	ins- gesamt
	F +	F +	F +	F +	F -	F -	
	K +	K +	K -	K -	K +	K +	
O 25						2	2
O 26	2	1	3	2	3		11
O 55			5	3			8
O 86					1		1
O 111		1	2	2			5
O 119		2	4	9			15
O 125						1	1
O 126						1	1
O 127			4	5			9
P II			2	2			4
	2	4	20	23	4	4	57

D = klinische Zeichen einer Dyspepsie

F = fluoreszenzmikroskopischer Nachweis

K = kulturell-serologischer Nachweis

P II = Polyvalent II Serum (O 86, O 119, O 125, O 126,
O 128)

+ = positiv

- = negativ

⁺⁺⁺ Zum besseren Vergleich erfolgte die tabellarische
Zusammenstellung wie bei Reimers ^{28,29}.

Davon hatten zwei Säuglinge eine Dyspepsie.

Bei 30 der 57 Kinder, in deren Stuhl DC nachgewiesen worden waren, verfolgten wir das Verhalten der Keime vor, während und nach der medikamentösen Therapie.

(Die Kinder bekamen Neomycinsulfat oder Chloromycetin.)

Dazu wurde möglichst nach dem ersten fluoreszenzmikroskopisch positiven DC - Befund an zehn Tagen von dem betreffenden Säugling ein Stuhl untersucht. Die kulturelle Untersuchung erfolgte dagegen nur am zweiten, fünften und siebenten Tag nach Abschluß der Behandlung mit den oben genannten Antibiotika. Die Keime wachsen nämlich auf der Kulturplatte nicht, wenn DC wirksame Medikamente noch im Stuhl vorhanden sind.

Nach den Ergebnissen der Verlaufsuntersuchungen unterteilten wir die 30 Säuglinge in drei Gruppen.

Gruppe I :

Bei zwölf Kindern konnten die Verlaufsuntersuchungen gleich am Tage nach dem ersten fluoreszenzmikroskopisch positiven Ergebnis vorgenommen werden. Dabei zeigte sich, daß die Keime bei vier Säuglingen schon nach 24 stündiger Behandlung mit Antibiotika aus dem Stuhl verschwunden waren. Sechs Kinder hatten auch noch nach dem ersten oder zweiten Behandlungstag fluoreszenzmikroskopisch nachweisbar DC im Stuhl. Gegenüber dem ersten Stuhlbefund änderte sich aber das Aussehen der Keime: die runde oder ovale Form der Bakterien blieb

zwar bestehen, sie wurden aber kleiner oder größer. Wir erkannten stets einen Randsaum. Die Fluoreszenz war nicht mehr so leuchtend. 24 - 48 Stunden nach Behandlungsbeginn waren bei diesen sechs Kindern keine DC mehr nachzuweisen.

Bei einem Säugling, der DC 0 26 im Stuhl hatte, sahen wir nach 24 stündiger Behandlung mit Neomycin in dem entsprechenden Feld des Präparates fluoreszierende amorphe Teilchen, die jedoch nicht die typische Begrenzung der DC zeigten - sie waren unregelmäßig und zackig -. In den anderen Feldern trat eine derartige Fluoreszenz nicht auf. Wir konnten nicht sicher entscheiden, ob es sich dabei um DC - Trümmer handelte. Möglicherweise war etwas von dem markierten Antiserum trotz der Inkubation des Präparates in der feuchten Kammer angetrocknet und wurde anschließend nicht mit abgespült. Bei den folgenden Untersuchungen stellten wir auch bei diesem Kind keine für DC verdächtige Fluoreszenz mehr fest.

Bei einem anderen Kind waren nach dem ersten DC positiven Stuhl die beiden nächsten nicht zu beurteilen, da eine starke Eigenfluoreszenz vorhanden war. (Der Säugling war wund geworden und mußte mit Zinkpaste behandelt werden.)

Bei drei der zwölf Kinder wurden auch durch die kulturelle Aufnahmeuntersuchung DC im Stuhl festgestellt. Die folgenden kulturell-serologischen Untersuchungen am zweiten, fünften und siebenten Tag waren bei sämtlichen zwölf Kindern negativ.

Gruppe II :

Bei 15 Kindern, bei denen Verlaufsuntersuchungen durchgeführt wurden, konnten aus äußeren Gründen die Stuhlkontrollen nicht unmittelbar am Tage nach dem ersten positiven Ergebnis durchgeführt werden. Die folgenden fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen, die vorwiegend am Ende oder gleich nach Abschluß der Behandlung durchgeführt wurden, ergaben bei allen 15 Kindern ein negatives Ergebnis.

Kulturell-serologisch konnten bei diesen Säuglingen keine DC nachgewiesen werden.

Gruppe III :

Bei drei Säuglingen wurde vor der Behandlung mit Neomycin DC 0 26 nachgewiesen. Die Keime verschwanden nur vorübergehend und traten nach der Behandlung wieder auf. Allerdings waren sie kleiner geworden. Nach einer zweiten Behandlung - diesmal mit Chloramphenicol - verschwanden die Bakterien bei zwei Kindern aus dem Stuhl. Bei dem dritten Kind, das irrtümlicherweise auch beim zweiten Mal mit Neomycin behandelt worden war, traten die DC nach dieser Behandlung wieder auf.

Wir haben die Untersuchungen, die bei den oben besprochenen 30 Kindern vorgenommen wurden, in Tabelle 3 (S. 15a) zusammengestellt. Da diese Tabelle den genauen Verlauf der Untersuchungen nicht wiedergeben kann, haben wir ihn bei drei Kindern jeder Gruppe in einer Skizze (S. 15b) gesondert dargestellt.

Tabelle 3

Kinder	Alter der Kinder									
	1.-3. Monat			4.-6. Monat			7.-12. Monat			
	F	F+	K+	F	F+	K+	F	F+	K+	insges.
I.1. T.B.	42	4	-							
2. S.G.	20	3	1							
3. F.B.	14	1	-							
4. M.B.	12	3	-							
5. V.Q.	12	1	1							
6. P.K.	11	2	1							
7. G.H.	10	3	-							
8. O.W.	10	3	-							
9. T.V.	10	1	-							
10. G.B.				10	1	-				
11. M.D.							11	3	-	
12. M.J.							11	2	-	
	141			10			22			173
II.3. Y.P.	24	1	-							
14. T.M.	12	1	-							
15. H.S.	12	1	-							
16. T.U.	12	1	-							
17. M.Z.	12	1	-							
18. J.S.	10	1	-							
19. D.D.	9	1	-							
20. A.M.	9	1	-							
21. R.J.	7	1	-							
22. C.R.				15	1	-				
23. Y.M.				10	1	-				
24. K.K.				6	1	-				
25. T.R.							13	1	-	
26. I.R.							10	1	-	
27. C.H.							9	1	-	
	107			31			32			170
III.28. C.F.	21	10	3							
29. M.N.	21	3	2							
30. D.K.				16	2	1				
	42			16						58

F = fluoreszenzmikrosk. Untersuchungen

F+= davon " positive

K+= kulturell-serologisch positiver Stuhlbefund

401

In den letzten vier Monaten des Untersuchungszeitraums färbten wir bei 127 der 420 eben aufgenommenen Säuglinge den Stuhl zur fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung mit monovalentem und polyvalentem Serum. Bei 107 dieser 127 Kinder wurden keine DC festgestellt.

20 Säuglinge hatten DC im Stuhl :

bei 17 Kindern wurden DC mit polyvalentem Serum entdeckt;

zwei Säuglinge hatten DC O 86 bzw. DC O 126 im Stuhl, die nur bei der kulturellen Untersuchung gefunden wurden (Diese DC - Gruppen konnten wir mit den zur Verfügung stehenden monovalenten Antiseren bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung nicht erfassen) ;

ein Kind hatte bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung mit monovalentem Serum DC O 111 im Stuhl.

Bei 13 der 17 Kinder, bei denen schon mit polyvalentem Serum DC im Stuhl entdeckt worden waren, wurde bei der anschließenden fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung mit monovalentem Serum die DC - Gruppe genau bestimmt. Bei den übrigen vier Säuglingen ergab nur die Untersuchung mit Polyvalent II - Serum (in dem O 86, O 119, O 125, O 126 und O 128 enthalten sind) ein positives Ergebnis, während die nachfolgende Untersuchung mit monovalenten Seren negativ war - es konnte allerdings nur die DC - Gruppe O 119 des Polyvalent II - Serums mit den uns zur Verfügung stehenden monovalenten Seren

(0 26, 0 55, 0 111, 0 119 und 0 127) nachgeprüft werden.

Bei den 127 Untersuchungen mit polyvalenten Seren wurden also 17 mal DC entdeckt. Außerdem hatten aber drei Säuglinge DC, die mit polyvalenten Seren nicht nachgewiesen wurden.

Bei 18 Aufnahme- und bei mehreren Verlaufsuntersuchungen machte die Eigenfluoreszenz des Stuhlausstrichs eine Beurteilung unmöglich (vgl. S. 11 und Skizze). Die Eigenfluoreszenz ist es, die manchmal bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung große Schwierigkeiten bereitet.

Dazu stellten PETUELY und LINDNER (27) bei ihren Untersuchungen fest, daß die Eigenfluoreszenz von Hefen störend auf die fluoreszenzmikroskopische Erkennung von DC wirkte. Das gleiche beobachtete GEBERT (10). KÖDITZ und WEINERT (16) gaben an, daß auch die Fluoreszenz des Stuhlschleims und die Eigenfluoreszenz von Kokken die Fluoreszenz der DC verdecken kann. REIMERS (28) beobachtete, daß bei den Präparaten, in denen nur kulturell-serologisch DC festgestellt worden waren, die Fluoreszenzmikroskopie in einem Fall versagt hatte, weil stark fluoreszierende Pilze vorhanden waren.

Wir sahen eine Eigenfluoreszenz von kokkenähnlichen Teilchen im Stuhlausstrich, die die Fluoreszenz von DC überdeckte. Da wir vermuteten, daß ein Teil dieser unspezifischen Fluoreszenz durch die gebräuchlichen

Salben hervorgerufen wurde, mit denen die Kinder vor dem Wundwerden geschützt werden sollten, untersuchten wir einige dieser Salben auf Eigenfluoreszenz. Wir fertigten dünne Salbenausstriche an und betrachteten sie unter dem Fluoreszenzmikroskop. Das Ergebnis dieser Untersuchungen zeigt die nachstehende Tabelle.

Tabelle 4

Salbe	Fluoreszenz
Albucid Eucerin	-
Eucerin	-
Fissan Paste	+
Lebertran Salbe	-
Penaten Creme	+
Satina	-
Vaseline	-
Zinkpaste	+

In den mit " + " bezeichneten Salben waren unterschiedlich große fluoreszierende Kreise, die manchmal einen Randsaum hatten, zu sehen. Wir nehmen an, daß Zinkoxyd die Fluoreszenz der Fettröpfchen hervorruft (Fluoreszenz von Zinkoxyd = GMELIN (12)). Nachdem wir nur noch Salben ohne Eigenfluoreszenz bei den Säuglingen verwandten, deren Stuhl auf DC untersucht werden sollte, blieb die oben beschriebene Störung der Untersuchung aus. Die von anderen Untersuchern festgestellte Fluoreszenz von Kokken zeigte sich allerdings auch noch später. Sie beeinträchtigte aber das Erkennen der DC nur wenig.

Besprechung der Untersuchungsergebnisse

Bei dem Vergleich der kulturell-serologischen Untersuchungsergebnisse mit den fluoreszenzmikroskopischen fallen zwei Beobachtungen auf :

1. Es gibt mit dem fluoreszenzmikroskopischen Verfahren weit mehr positive Resultate als mit der kulturell-serologischen Untersuchungsmethode.
2. Nicht alle kulturell-serologisch DC positiven Resultate können durch die Fluoreszenzmikroskopie bestätigt werden.

Zum Vergleich sind die eigenen Untersuchungsergebnisse mit denen anderer Autoren in Tabelle 5 zusammengestellt.

Man könnte daran denken, daß die größere Anzahl der fluoreszenzmikroskopisch positiven Ergebnisse dadurch zustande kommt, daß im Kaninchenserum auch gegen andere menschliche Darmkeime gerichtete Antikörper vorkommen. Diese könnten bei der Koppelung mit Fluoreszenzfarbstoff markiert werden. Die entsprechenden Keime würden dann im Stuhlausstrich angefärbt werden. THOMASON (33) hat jedoch nachgewiesen, daß im Kaninchenserum keine derartigen Antikörper vorhanden sind.

Die größere Anzahl der DC positiven Ergebnisse bei der Fluoreszenzmikroskopie könnte auch dadurch zustande kommen, daß man fluoreszierende Bestandteile des Stuhles für DC hält, obwohl es keine sind. Wir haben oben (S. 18) beschrieben, daß die Tröpfchen zinkhaltiger

Tabelle 5

Autor	Zahl der Unters.	negativ	positiv		
		F und K	F und K	nur F	nur K
WHITACKER ³⁴ 1957	144	19	22	73	0
PETUELY ²⁷ 1958	126	112	9	5	0
KÖDITZ ¹⁶ 1960	700	265	251	184	0
NELSON ²² 1960	365	316	27	10	12
CHERRY ⁴ 1961	291	185	72	34	0
COHEN ⁵ 1961	87	37	35	4	11
THOMASON ³³ 1961	307	196	67	44	0
LE MINOR ¹⁸ 1962	224	149	56	16	3
REIMERS ²⁸ 1962	400	185	15	87	13
SHAUGNESSY ³⁰ 1962	824	732	70	19	3
GEBERT ⁹ 1963			18	39	17
REIMERS ²⁹ 1963	500	417	6	66	11
GEBERT ¹⁰ 1964	375	191	72	109	3
EIGENE Un- tersuchung 1964	420	363	6	43	8

F = fluoreszenzmikroskopische, K = kulturell-serologische
Untersuchungsergebnisse

Salben im Stuhlausstrich bei der Betrachtung mit dem Fluoreszenzmikroskop rund aussehen und einen Randsaum zeigen. Dadurch können sie den DC in ihrer Fluoreszenz ähnlich sehen. Sollten sich nun zinkhaltige Salben im Stuhlausstrich befinden, so ist es durch die Methode von REIMERS (28) - der Stuhlausstrich wird durch Parafinstriche zur Untersuchung auf mehrere DC - Gruppen unterteilt (s. S. 5) - möglich, diese "Eigenfluoreszenz" des Stuhles leicht von der Fluoreszenz der angefärbten DC zu unterscheiden : liegt eine Eigenfluoreszenz vor, so tritt sie in sämtlichen Feldern des Stuhlausstrichs auf, so daß man den Stuhl eventuell nicht beurteilen kann; sind jedoch DC vorhanden, so sieht man ihre Fluoreszenz nur in dem der DC - Gruppe entsprechenden Feld. (Es ist nicht beobachtet worden, daß ein Kind gleichzeitig fünf DC - Gruppen im Stuhl aufweist.) Andere fluoreszierende Bestandteile des Stuhles (Kokken, Hefen, s. S. 17) sind von der Fluoreszenz der DC leichter zu unterscheiden; denn die Bestandteile sind verschieden groß, ihre Form ist unregelmäßig zackig, ein Randsaum ist selten zu sehen. Man kann also durchaus die Eigenfluoreszenz von Stuhlbestandteilen von der Fluoreszenz der angefärbten DC abgrenzen.

Die Möglichkeiten der kulturell-serologischen Untersuchungsmethode und die Empfindlichkeit der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung auf DC wurden von verschiedenen Auto-

ren beschrieben. MARGET (19) konnte zeigen, daß in einem Bakteriengemisch, daß 10 % DC enthält, diese kulturell-serologisch nicht mehr sicher festzustellen sind. HOFFMANN (13) wies nach, daß wegen der biochemischen Ähnlichkeit zwischen Normalcoli und DC diese kulturell nicht in allen Stühlen gefunden werden können, in denen sie vorhanden sind. Durch einen Zusatz von Streptomycin zum Nährboden wurden Normalcoli im Wachstum ehemmt, DC O 111 jedoch nicht. Durch diesen Elektivnährboden für DC O 111 konnte er 252 mal DC im Stuhl feststellen, die bei der Züchtung auf Normalnährböden nicht entdeckt wurden. Die Mehrausbeute an positiven DC O 111 - Befunden betrug 56,2 %.

Fluoreszenzmikroskopisch lassen sich schon 40 - 100 Bakterien/ml nachweisen. Dagegen sind zum kulturell-serologischen Nachweis 10^8 Bakterien/ml notwendig, um ein positives Ergebnis zu erzielen (MOODY u.Mitarb (21)).

DANIELSON (8) hat DC - haltigen Stuhl mit DC - freiem Stuhl verdünnt. Kulturell-serologisch waren bis zu einer Verdünnung von 1 : 2, fluoreszenzmikroskopisch jedoch bis zu einer Verdünnung von 1 : 128 DC nachzuweisen. Bei größeren Verdünnungen gelang der Nachweis dann nicht mehr.

PAGE (26) stellte fest, daß bei einem fluoreszenzmikroskopisch positiven Stuhl das Ergebnis kulturell-serologisch manchmal erst bestätigt werden konnte, nachdem hunderte von Kolonien ausgewählt und serologisch getestet worden waren. - Bei der kulturell-serologischen Routineunter-

suchung werden jedoch nur drei Einzelkolonien und zusätzlich eine größere Bakterienmenge mit Antiseren auf Agglutination getestet (s.S. 7,8). Es ist bei diesem Verfahren möglich, daß Kolonien von DC nicht in die Untersuchung einbezogen werden. -

NELSON (22) hat gezeigt, daß bei der kulturellen Erstuntersuchung DC übersehen wurden, die dann bei einer zweiten Untersuchung der gleichen Stuhlprobe - wie schon vorher mit der Fluoreszenzmikroskopie - entdeckt wurden.

REIMERS (29) stellte bei seinen Untersuchungen fest, daß man mit der Fluoreszenzmikroskopie DC nachweisen kann, die mit dem entsprechenden Antiserum schlecht agglutinieren, und daher bei der kulturell-serologischen Untersuchung nicht entdeckt werden können.

Bei den kulturell-serologischen Routineuntersuchungen im Medizinaluntersuchungsamt II Berlin werden die Bakterien nach der kulturellen Züchtung mit polyvalenten Seren auf Agglutination getestet. Mit dem Polyvalent I Serum können acht, mit dem Polyvalent II Serum fünf DC - Gruppen erfaßt werden (s.S. 7). Das bedeutet, daß das Antiserum für die einzelnen DC - Gruppen durch die Mischung mit den anderen Seren verdünnt ist. Wahrscheinlich werden schon dadurch schwach agglutinierende DC - Stämme nicht erkannt. Die abschließende Beurteilung, ob im Stuhl DC vorhanden sind, hängt bei der serologischen Untersuchung davon ab, ob die in einer Bouillonkultur

angereicherten Keime mit dem entsprechenden Antiserum einen festgelegten Agglutinationstiter erreichen. Ist das nicht der Fall, so wird der Stuhl als DC frei angesehen (s. S. 9). Schwach agglutinierende DC- Stämme werden also bei dieser Untersuchung nicht erfaßt.

Bei den eigenen Untersuchungen wurden von 57 Kindern, die DC im Stuhl hatten, die Keime bei 43 Säuglingen nur durch die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung nachgewiesen.

Andererseits hatten acht Kinder DC im Stuhl, die nur bei der kulturell-serologischen Untersuchung gefunden wurden. Davon gehörten die DC von drei Kindern einer DC - Gruppe an, die in die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung nicht einbezogen war (zwei Kinder hatten DC O 25, eins DC O 125 im Stuhl). Weitere drei der acht Kinder hatten kulturell DC O 26 im Stuhl:

1. Fall: Der Säugling S. M. wurde im Alter von acht Monaten wegen einer Dyspepsie aufgenommen. Die kulturell-serologische Untersuchung des ersten Stuhles ergab DC O 26. Fluoreszenzmikroskopisch wurde eine starke Eigenfluoreszenz im Stuhl festgestellt und eine weitere Probe zur Untersuchung angefordert. Bei dieser Untersuchung konnten fluoreszenzmikroskopisch wie auch kulturell-serologisch keine DC festgestellt werden. Die Behandlung des Kindes mit Neomycinsulfat setzte erst zwei Tage nach der zweiten Untersuchung ein, als das Resultat der ersten bakteriologischen Untersuchung vorlag.

2. Fall: Der Säugling T. K. wurde im Alter von fünf Wochen wegen einer Erkrankung an spastischer Pylorusstenose aufgenommen. Die Routineuntersuchung auf DC ergab kulturell DC O 26, fluoreszenzmikroskopisch war sie negativ. Bei zwei späteren Untersuchungen wurden dann kulturell-serologisch nicht mehr DC O 26, sondern DC O 78 festgestellt. Fluoreszenzmikroskopisch waren nie DC nachzuweisen. Gekoppeltes Serum gegen O 78 stand uns nicht zur Verfügung. (Dieses Kind wurde nicht in die oben erwähnte Gruppe eingereiht, weil zunächst DC O 26 festgestellt worden waren.)

3. Fall: Der 13 Tage alte Säugling C.F. wurde wegen einer Dyspepsie aufgenommen. Die kulturelle Untersuchung ergab in drei Stuhlproben DC O 26. Zwei dieser Proben wurden auch fluoreszenzmikroskopisch untersucht : die erste war negativ, die zweite positiv. Bei späteren fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden dann auch nach der Therapie mit Neomycinsulfat noch DC O 26 im Stuhl gefunden.

Die Vermutung, daß das gekoppelte Antiserum eine unzureichende Fluoreszenz ergab und damit zu negativen Ergebnissen bei der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung führte (vgl. REIMERS (29), SHAUGNESSY (30), traf in den letzten beiden Fällen nicht zu. Denn nach Fall 2 wurden in den folgenden Tagen zwei Kinder aufgenommen, bei denen fluoreszenzmikroskopisch mit dem gleichen Serum DC O 26 nachgewiesen wurden. Nach dem dritten Fall, der

etwa einen Monat nach dem zweiten auftrat, wurden bei drei folgenden Aufnahmeuntersuchungen bei anderen Säuglingen mit dem gleichen gekoppelten Antiserum DC O 26 fluoreszenzmikroskopisch festgestellt. Zwei davon waren auch bei der kulturell-serologischen Untersuchung positiv.

Es war nicht zu klären, warum die Fluoreszenzmikroskopie in diesen drei Fällen versagte. Ein Fehler bei der kulturell-serologischen Untersuchung nach dem oben (S. 7-9) geschilderten Verfahren erscheint ebenfalls wenig wahrscheinlich.

Bei den letzten zwei der oben aufgeführten acht Säuglinge wurden kulturell-serologisch DC O 86 bzw. DC O 126 zu einer Zeit festgestellt, zu der wir bereits die Möglichkeit hatten, diese DC - Gruppen mit dem Polyvalent II Serum anzufärben und damit fluoreszenzmikroskopisch sichtbar zu machen. Die fluoreszenzmikroskopische Stuhluntersuchung war bei diesen beiden Kindern möglicherweise - entgegen der kulturell-serologischen Untersuchung - negativ, weil nur polyvalentes Serum zur Untersuchung der entsprechenden DC - Gruppen zur Verfügung stand. Zwar stellten THOMASON (32 + 33) und COHEN (5) fest, daß man auch bei fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen gekoppelte polyvalente Antiseren zur Färbung der Bakterien benutzen kann. Aber nur GEBERT (11) hat nachgeprüft, wie die günstigste Zusammensetzung der polyvalenten Seren ist. Er kam zu dem Ergebnis, daß durch Globulinfällung

angereicherte monovalente Seren im Verhältnis ihrer Agglutinationstiter gemischt die besten polyvalenten Seren ergeben. Es gelang GEBERT (11) aber auch mit diesen polyvalenten Seren bei 3 % der Kinder, bei denen sich fluoreszenzmikroskopisch mit monovalenten Seren DC feststellen ließen, der DC - Nachweis nicht.

Wir nahmen während der letzten vier Monate des Untersuchungszeitraums bei 127 Kindern Paralleluntersuchungen mit monovalenten und polyvalenten Seren vor (s.S. 16). In den uns zur Verfügung stehenden polyvalenten Seren waren gleiche Mengen monovalenter Seren gemischt . Bei 20 der 127 Kinder wurden DC festgestellt. 17 mal gelang der Nachweis schon mit polyvalenten Seren. Bei den restlichen drei Säuglingen konnten jedoch bei der Untersuchung mit polyvalenten Seren keine DC nachgewiesen werden. (Bei zwei der drei Säuglinge wurden die Keime bei der kulturell-serologischen Untersuchung gefunden. Es handelte sich um DC O 86 und DC O 126. Bei dem dritten Säugling ergab die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung mit monovalentem Serum DC O 111.)

17 polyvalent positive Resultate sind zu wenig, um zu beurteilen, ob eine fluoreszenzmikroskopische Untersuchung mit diesen Seren für die Routineuntersuchung einer Kinderklinik ausreicht oder nicht. Es scheint nach den eigenen Ergebnissen und denen von GEBERT (11) jedoch zweckmäßig zu sein, für die häufiger auftretenden DC - Gruppen monovalente Seren zu benutzen. Immerhin bieten

polyvalente gekoppelte Antiseren die Möglichkeit, mit wenigen Antiseren auch die seltenen DC - Gruppen in die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung einzubeziehen.

Zum Verhalten der DC während der Therapie stellte OCK-LITZ (24) fest, daß Aureomycin in den bakteriellen Stoffwechsel eingreift. Es führt zu einer Keimhemmung mit Zellvergrößerung und Deformierung der Bakterien.

NELSON (22) sah quantitative und qualitative Veränderungen der Bakterien während der Neomycintherapie : nach 24 stündiger Behandlung war die Zahl der DC stark gesunken, die Bakterien erschienen kleiner, die Zellgrenzen waren weniger scharf und die die Bakterien umgebende leuchtende Halo war im Fluoreszenzmikroskop nicht mehr festzustellen. Nach 48 - 72 stündiger Behandlung waren nur noch amorphe Klumpen zu sehen. Kulturell-serologisch wurden schon nach 24 Stunden keine DC mehr festgestellt.

GEBERT (10) schreibt über das morphologische Verhalten unter Therapie, daß bei guter Wirksamkeit des Antibiotikums die DC nach ein bis zwei Tagen aus dem Stuhl verschwinden. Bei mäßiger Wirksamkeit vermindert sich die Zahl der Keime langsam, die DC blassen ab ; man sieht kleinere oder größere Gebilde mit Randsaum, der eventuell ausgefranst sein kann, und in der Folge amorphe Klumpen. Ein abgeblaster Randsaum ist kein Zeichen für tote Erreger. Diese können sich nach Absetzen des Antibiotikums wieder erholen, fluoreszenzmikroskopisch und kulturell

gut nachweisbar werden und bei dem Kind eine Dyspepsie hervorrufen.

In unseren Untersuchungen verfolgten wir bei 30 Kindern, in deren Stuhl fluoreszenzmikroskopisch DC nachgewiesen worden waren, das Verhalten der Keime während und nach der Therapie (s. S. 11).

Die Behandlung erfolgte in der Regel mit Neomycinsulfat, das den Säuglingen in der Dosierung 35 - 40 mg/kg et die in vier Einzeldosen verteilt, fünf Tage lang gegeben wurde.

Während dieser Behandlung verschwanden die Keime bei 27 Kindern spätestens nach drei Behandlungstagen aus dem Stuhl (s. S. 13 - 15 sowie Skizze S. 15 b Gruppe I und II). Auch wir beobachteten, daß die Färbbarkeit der DC mit markiertem Antiserum offenbar unter dem Einfluß der Therapie schlechter wurde, was wir an der geringeren Fluoreszenz der Keime erkannten. Amorphe Teilchen, wie sie von NELSON (22) und GEBERT (10) beschrieben wurden, sahen wir nur einmal. Dabei waren wir allerdings nicht sicher, ob es sich tatsächlich um DC-Trümmer mit noch intakten Antigenen handelte (s.S. 14).

Wir stellten bei unseren Verlaufsuntersuchungen manchmal fest, daß die Zahl der Keime während der medikamentösen Therapie abnahm. Dieses Ergebnis vermerkten wir jedoch nicht besonders: die Zahl der DC hängt auch von der Dicke des Stuhlausstrichs ab; außerdem können sich die Kei-

me in der Zeit vermehren, die vergeht, bis von dem Stuhl ein Präparat angefertigt wird (vgl. BRAUN (4), KAUFFMANN (15)).

Bei den drei Säuglingen der Gruppe III der Verlaufsuntersuchungen traten die DC nach der Behandlung mit Neomycin wieder auf (s. S. 15 sowie Skizze S. 15 b). Bei den Säuglingen C. F. und M. N. waren die Keime gleich im Anschluß an die Behandlung mit Neomycin wieder zu sehen. Bei dem Säugling T. K. wurden am siebenten Tag nach dem Behandlungsende wieder DC festgestellt. Möglicherweise handelte es sich bei diesem Kind um eine Reinfektion, da andere Kinder mit der gleichen DC - Infektion im Zimmer gepflegt wurden.

Bei den letztgenannten drei Säuglingen wurden auch kulturell-serologisch DC festgestellt. Daraufhin wurden bei zwei dieser drei Kinder (C. F. und M. N.) vom Untersuchungsamt mit dem Plättchentest Resistenz - bestimmungen vorgenommen. Dabei zeigte sich, daß die Keime sehr gut bzw. gut gegen Neomycin empfindlich waren. Dieses Ergebnis widerspricht nun allerdings dem fluoreszenzmikroskopischen Befund, denn bei beiden Kindern traten die Keime nach der Behandlung wieder auf. Möglicherweise ist das Medikament durch die Flüssigkeit im Magen - Darm - Trakt der Kinder so verdünnt worden, daß die Konzentration des Neomycinsulfats schließlich zu gering war, um die DC zu schädigen.

- Bei 72 anderen DC - Resistenzbestimmungen mit dem Plättchentest bei Kindern der Klinik, die in den Jahren 1961 - 1964 in dem Medizinaluntersuchungsamt II Berlin vorgenommen wurden, waren übrigens die DC 66 mal sehr gut oder gut gegen Neomycinsulfat empfindlich. Nur im Jahr 1961 waren DC O 127 von zwei Kindern nur mäßig gegen Neomycin empfindlich; bei vier Kindern waren DC O 127 gegen dieses Antibiotikum resistent. -

Als Ergebnis unserer fluoreszenzmikroskopischen Verlaufsuntersuchungen können wir feststellen, daß Neomycinsulfat in der Regel ein wirksames Mittel zur Bekämpfung von DC - Infektionen ist; denn bei 27 der 30 Kinder, die DC im Stuhl hatten, waren die Keime schon nach wenigen Behandlungstagen verschwunden.

Auf einer fluoreszenzmikroskopischen Stuhlkontrolle während der Therapie braucht man nicht zu bestehen. Uns erscheint es ausreichend, wenn man mindestens zwei Tage nach Absetzen der DC - wirksamen Medikamente noch einmal eine fluoreszenzmikroskopische Stuhlkontrolle auf DC vornimmt. In dieser Zeit können sich eventuell noch vorhandene DC erholen. Sie sind dann im Fluoreszenzmikroskop wieder leicht zu erkennen. Findet man bei dieser Kontrolle keine DC, kann das Kind als frei von DC angesehen werden. Unseres Erachtens nach können diese Kinder dann auf eine DC - freie Säuglingsstation verlegt werden. Bei der bisherigen zeitraubenden und weniger empfindlichen kultu -

rell-serologischen Methode wagten wir erst neun Tage nach dem Absetzen der DC - wirksamen Medikamente, die " geheilten " Kinder auf eine " saubere " Station zu entlassen.

Von den 57 Kindern, bei denen DC nachgewiesen worden waren, hatten 26 klinische Erscheinungen einer Dyspepsie (s. Tab. 2 Seite 12). Der Nachweis der Bakterien gelang bei 20 dieser Säuglinge nur fluoreszenzmikroskopisch. Die übrigen 31 Säuglinge, die ebenfalls DC im Stuhl hatten, boten klinisch keine Zeichen einer Dyspepsie. Das ist damit zu erklären, daß es darmgesunde Keimträger gibt. KREPLER (17) zeigte 1953 am Verlauf zweier Epidemien, daß mit etwa 20 % darmgesunder Keimträger zu rechnen ist. BRAUN (3) stellte mit dem kulturell-serologischen Verfahren fest, daß bei Epidemien bis zu 29,9 % der Säuglinge darmgesunde Keimträger sind. Sonst sollen etwa 5 % Keimträger von DC sein (BRAUN (3), OCKLITZ (24), SOLOMON (31)). BRAUN (3) schreibt, daß bei darmgesunden Kindern die Häufigkeit des Vorkommens von DC - Bakterien verschieden groß ist, je nachdem, ob die Kinder Kontakt mit Erkrankten hatten oder nicht.

Viele Kinder können schon bei der Geburt mit DC in Berührung kommen. OCKLITZ (25) fand im letzten Stuhl der Mutter vor der Geburt in 7 %, im ersten Stuhl nach der Geburt in 14 % DC. Nach COOPER (7) hatten 12,7 % der Mütter zur Zeit der Entbindung im Vaginalabstrich DC.

Bei Untersuchungen von WEDEMEYER (35) zeigte sich, daß bei jeder fünften Frau während der Geburt im Dammabstrich kulturell-serologisch DC nachzuweisen waren. Bei 44 von 218 Neugeborenen (20,1 %) wurden DC festgestellt.

Diese Ergebnisse zeigen, daß Kinder häufig DC aufnehmen können. Nicht jedes Kind reagiert mit einer Dyspepsie. Es kann zum Keimträger werden und andere Kinder infizieren. Mit der fluoreszenzmikroskopischen Methode wird man nun auch diejenigen Keimträger feststellen, bei denen der kulturell-serologische Nachweis der Keime nicht gelingt. Das zeigt auch unser Untersuchungsergebnis : bei 23 der 31 klinisch darmgesunden Säuglinge wurden die DC nur mit der fluoreszenzmikroskopischen Methode festgestellt.

Zusammenfassung

In der Zeit vom 1.2.1964 bis zum 30.1.1965 haben wir bei 420 Säuglingen Stuhlproben fluoreszenzmikroskopisch und kulturell-serologisch auf Dyspepsiecoli (DC) untersucht. Zur fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung benutzten wir bei 127 Kindern sowohl polyvalente als auch mono - valente fluoreszierende Antiseren.

Bei 363 Säuglingen (86,4 %) ließen sich keine DC im Stuhl nachweisen. Bei den übrigen 57 Säuglingen (13,6 %) befanden sich DC im Stuhl. 43 mal (10,2 %) gelang der Nachweis nur fluoreszenzmikroskopisch, 8 mal (2 %) nur kulturell-serologisch und 6 mal (1,4 %) wurden mit beiden Verfahren DC entdeckt.

Die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung von Stuhlproben ist empfindlicher als die kulturell-serologische. Mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie läßt sich schon nach zwei Stunden sagen, ob ein Kind DC im Stuhl hat oder nicht.

Wir untersuchten bei 30 der 57 Säuglinge mit Nachweis von DC Stuhlproben während und nach der medikamentösen Therapie. Mit drei Ausnahmen waren bereits am dritten Tag nach Einsetzen der medikamentösen Behandlung DC nicht mehr nachweisbar.

Man kann DC fluoreszenzmikroskopisch gut nachweisen, wenn man die Säuglinge, deren Stuhl man untersucht, nicht mit

zinkhaltigen Salben im Windelbereich versieht; denn die Tropfen dieser Salben stören durch ihre Eigenfluoreszenz.

Mit polyvalenten Antiseren können die DC fluoreszenzmikroskopisch nicht so sicher nachgewiesen werden wie mit monovalenten Antiseren.

Literatur:

- 1) ADAM, A.: "Über die Biologie der Dyspepsiecoli und ihre Beziehung zur Pathogenese der Dyspepsie und Intoxikation."
Jb.Kinderheilk. 101, 259 (1923)
- 2) ADAM, A.: "Säuglings-Enteritis"
Georg Thieme Verl., Stuttgart 1956
- 3) BRAUN, O.: "Das Problem der Pathogenität von Escherichia Coli im Säuglingsalter."
Erg.inn.Med. Neue Folge 4, 52 (1953)
- 4) CHERRY, W.B.,
THOMASON, B.M.,
POMALES-LEBRON,
EWING, W.H.: "Rapid Presumptive Identification of Enteropathogenic Escherichia Coli in Faecal Smears by Means of Fluorescent Antibody. 3. Field Evaluation."
Bull.WHO 25, 159 (1961)
- 5) COHEN, F.,
PAGE, R.H.,
STULBERG, C.S.: "Immunofluorescence in Diagnostic Bacteriologie. III. The Identification of Enteropathogenic E.Coli Serotypes in Fecal Smears."
Amer.J.Dis.Child. 102, 82 (1959)
- 6) COONS, A.H.,
CRECH, H.J.,
JONES, R.N. : "Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group."
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 47, 200
(1941)

- 7) COOPER, M.L.,
KELLER, H.M.,
WATERS, E.W.,
PARTIN, J.C.,
BOYE, D.E. :
"Isolation of Enteropathogenic
Escherichia Coli from Mothers
and Newborn Infants."
Amer.J.Dis.Child.97, 255 (1959)
- 8) DANIELSSON, D.,
LAURELL, G. :
"Identification of Enteropatho-
genic Escherichia Coli O 111:B 4
by Means of Fluorescent Antibodies."
Acta paediatr.Uppsala 50, 339 (1961)
- 9) GEBERT, P. :
"Beitrag zur Diagnostik und
Therapie der Dyspepsie Coli-
Enteritis."
Zschr.ärztl.Fortbild.(Jena)
57, 309 (1963)
- 10) GEBERT, P. :
"Über die Aussagekraft fluores-
zenzmikroskopischer Untersuch-
ungen bei der Dyspepsie Coli-
Enteritis."
Mschr.Kinderhk.112, 80 (1964)
- 11) GEBERT, P. :
"Polyvalente Antiseren in der
fluoreszenzmikroskopischen
Schnelldiagnostik von Dyspep-
siecoli-Enteritiden."
Mschr.Kinderhk.112, 358 (1964)
- 12) GMELIN
Handbuch der anorganischen Chemie
Erg.Bd.Syst.Nr.32, S.788
- 13) HOFFMANN, K. :
"Zur Züchtung von Enteritis-
Coli-Bakterien."
Mschr.Kinderhk.105, 107 (1957)

- 14) KAUFFMANN, F. : "Enterobacteriaceae (Serologie der Coligruppe)."
Ejnar Munksgaard Kopenhagen,
2. Aufl. (1954)
- 15) KAUFFMANN, F. : "Über die Bedeutung der Escherichia-Coli Typen für die Beurteilung der Darmflora."
Dtsch.med.Wschr. 79, 1033 (1954)
- 16) KÖDITZ, H.,
WEINERT, A. : "Zur Schnelldiagnose pathogener Colitypen mittels fluoreszieren-der Antikörper."
Kinderärztl. Praxis 28, 513 (1960)
- 17) KREPLER, P. : "Zur klinischen Bedeutung bestimmter Coli-Serotypen bei der Säuglingsenteritis."
Mschr. Kinderhk. 101, 110 (1953)
- 18) LE MINOR, L.,
FOURNIER, P.J.,
ELIACHAR, E. : "Le depistage rapide par la méthode de l'immunofluorescence des "Escherichia coli" entéro-pathogènes pour le nourrisson."
Ann. Pédiat. 38, 493 (1962)
zit. im Zbl. Kinderhk. 87, 109 (1963)
- 19) MARGET, W. : "Über die Bedeutung pathogener Keime der Escherichia Gruppe für die Entstehung sporadischer und endemischer Säuglings-enteritis."
Mschr. Kinderhk. 101, 113 (1953)

- 20) MAYERSBACH, H. : "Immunhistologische Methoden.
II. Ein weiterer Markierungsstoff:
1-Dimethylamino-naphthalin-
sulfosäure-5."
Acta histochemica 5, 351 (1958)
- 21) MOODY, M.D., "Sensitivity of bacterial agglu-
THOMASON, B.M., tination and fluorescent anti-
WINTER, C.C., body reactions."
HALL, J.A. : Bact. Proc. (1959) S. 89
- 22) NELSON, J.D., "Diagnosis of enteropathogenic
WHITAKER, J.A. : E. coli diarrhea by fluorescein-
labeled antibodies."
J. Pediatr. 57, 684 (1960)
- 23) NELSON, J.D., "Epidemiological Application of
WHITAKER, J.A., the Fluorescent Antibody Technique.
HEMSTEAD, B., Study of a Diarrhea outbreak in a
HARRIS, M. : Premature Nursery."
J. A. M. A. 176, 26 (1961)
- 24) OCKLITZ, H.W., "Die Bedeutung pathogener Coli-
SCHMIDT, E.F. : stämme (Dyspepsiecoli) für die
akuten Durchfallserkrankungen
des Säuglings."
Arch. Kinderhk. 28. Beiheft (1954)
- 25) OCKLITZ, H.W., "Über das Vorkommen von Dyspep-
SCHMIDT, E.F. : siecoli bei Erwachsenen."
Helvet. paediatr. acta 10, 450 (1955)
- 26) PAGE, R.H., "Immunofluorescence in epidemiologic
STULBERG, C.S. : control of E. coli diarrhea.
Incidence, crossinfections and
control in a children's hospital."
Amer. J. Dis. Child. 104, 149 (1962)

- 27) FETUELY, F.,
LINDNER, G. : "Eine einfache Schnellmethode zur Erkennung von pathogenen Colikeimen in Stuhlausstrichen mit Hilfe von fluoreszierenden Antikörpern. (Markierung mit 1-Dimethylamino-naphthalin-sulfosäure-5 als Fluoreszenzfarbstoff)." Arch.Kinderhk.158, 248 (1958)
- 28) REIMERS, E. : "Routineuntersuchungen auf Dyspepsie-Coli mit der Fluoreszenzmethode." Mschr.Kinderhk.110, 300 (1962)
- 29) REIMERS, E. : "Fluoreszenzmikroskopische und kulturelle Stuhluntersuchungen auf enteropathogene Escherichia coli." Mschr.Kinderhk.111, 375 (1963)
- 30) SHAUGHNESSY, H.,
LESKO, J.M.,
DORFEN, F.,
FORSTER, G.F.,
MORRISSEY, R.A.,
KESSNER, D.M. : "An extensive community outbreak of diarrhea due to enteropathogenic Escherichia coli O 111 : B 4. II. A comparative study of fluorescent antibody identification and standard bacteriologic methods." Amer.J.Hyg.76, 44 (1962)
- 31) SOLOMON, F.,
WEINSTEIN, L.,
JORESS, S.M. : "Studies of the incidence of carriers of enteropathogenic Escherichia coli in a pediatric population." J.Pediatr.58, 716 (1961)

- 32) THOMASON, B.M., "Rapid Identification of serotypes
CHERRY, W.B., of Escherichia coli with poly-
EWING, W.H. : valent antibody globulins labeled
with fluorescein."
Bact.Proc.(1959) S.90
- 33) THOMASON, B.M., "Rapid Presumptive Identification
CHERRY, W.B., of Enteropathogenic Escherichia
DAVIS, B.R., Coli in Faecal Smears by Means
POMARES-LEBRON, A.: of Fluorescent Antibody.
1.Preparation and Testing of
Reagents."
Bull WHO 25, 137 (1961)
- 34) WHITAKER, J.A., "Rapid identification of entero-
PAGE, R.H., pathogenic Escherichia coli
STULBERG, C.S., O 127 : B 8 by fluorescent anti-
ZUELZER, W.W. : body technique."
Amer.J.Dis.Child.95, 1 (1958)
- 35) WEDEMEYER, F.W., "Untersuchungen zur Epidemiologie
NIEMES, B. : der Colienteritis auf einer
Neugeborenenstation."
Geburtsh.u.Frauenhk.18, 1240 (1958)

Lebenslauf

Am 26. Mai 1939 wurde ich als erstes von zwei Kindern des Dr. med. Walter Krehnke und seiner Ehefrau Gerda, geb. Schmiedchen in Kiel geboren. Bald danach zogen wir nach Berlin, wo ich bis heute lebe.

Am 11. August 1943 ist mein Vater als Oberstabsarzt der Marine gefallen.

Ich wurde 1945 eingeschult, besuchte zunächst sechs Jahre die Grundschule in Berlin - Schlachtensee, dann die Dreilindenschule in Berlin - Wannsee. Dort machte ich im März 1959 das Abitur.

Anschließend begann ich mit dem Studium an der Freien Universität Berlin. Zunächst hörte ich drei Semester Physik, Mathematik und Chemie. Vom Wintersemester 1960 / 61 an studierte ich Medizin.

Die ärztliche Vorprüfung legte ich am 29. April 1963, ab, das medizinische Staatsexamen am 27. September 1966.

Anschließend begann ich die Ausbildung als Medizinalassistent an der Inneren Abteilung des Behring - Krankenhauses in Berlin - Zehlendorf.

Ich bin verheiratet und habe eine Tochter.

Druck: PHOTO COPIE W.Hilke KG, 1 Berlin 30, Motzstraße 64

